

**TERMOFIILSETE PIIMHAPPEBAKTERITE,
MESOFIILSETE LAKTOBATSILLIDE JA
PROPIOONHAPPEBAKTERITE MONOKULTUURSETE
JUURETISTE MÕJU EMMENTALI JUUSTU
MIKROBIOLOOGILISTELE PROTSESSIDELE**

P. Elias

SUMMARY: *The Effect of the Thermophilic Lactic Acid Bacteria, Mesophilic Lactobacilli and Propionic Acid Bacteria Single Strain Starter Cultures on Microbiological Processes in Emmental Cheese.* The effect of the thermophilic streptococci, lactobacilli, mesophilic lactobacilli and propionic acid bacteria single strain starter cultures on microbiological processes in making of Emmental cheese was studied.

The count of the lactococci increased in pasteurized milk about 1.3 times when it was ripened (9-12 °C; 16-20 hours) with mesophilic starter cultures of lactococci, and they became dominating microorganisms in milk. When thermophilic streptococci, lactobacilli and *L. casei* single strain starter cultures were added to milk, the milk contained considerably more thermophilic and mesophilic lactobacilli and less thermophilic streptococci, compared with using of the mixed thermophilic culture TMB. These differences were caused by starters. The relation between lactobacilli and streptococci changed in cultivating of the mixed bulk starter culture TMB. This changed relation was carried in to milk by adding of the mixed starters and from milk to the cheeses in cheesemaking. The differences between the cheeses of the thermophilic lactic acid bacteria and the cheeses made with monocultures, compared to the cheeses, which made with the mixed bulk starter TMB, remained in case of streptococci for 30 days and in case of lactobacilli for 3 months. It affected significantly pH and through it the quality of the cheeses. The count of the mesophilic lactobacilli increased in milk by adding *Lactobacillus casei* T and it stabilized multiplication of the lactobacilli from raw milk. The raw milk contamination with aerobic spore forming bacteria was small and their multiplication in cheeses slow. Using of different lactic acid starter cultures did not have any effect on the counts and multiplication of the spores.

When monocultures of the thermophilic lactic acid bacteria were used, the multiplication of propionic acid bacteria was more intensive and the count of them significantly higher in two or three months old cheeses, compared with cheeses made with the mixed culture TMB. Our results showed that cheesemaking with the selected starter cultures of the propionic acid bacteria, which grew well together with the mesophilic and thermophilic lactic acid starter cultures and very slowly at low temperatures (below 10 °C) gave us one of the possibilities to regulate the propionic acid fermentation in ripening of Emmental cheeses.

Key words: *thermophilic lactic acid streptococci and lactobacilli, mesophilic lactobacilli, propionic acid bacteria, starter, Emmental cheese.*

Olenevalt toorpiima saastatusest võib juustude valmistamiseks kasutatava pastöriseeritud piima 1 ml-sse jääda tuhandeid või sadu tuhandeid eluvõimelisi mikroobirakke. Piimast juustu sattunud mikroorganismid, mis seal ei paljune, ei avalda ka mingit mõju juustudele. Kuid sõltuvalt juustude valmistamise kestvusest võivad bakterid läbida seal täieliku arengutsükli, alates aktiivsest paljunemisest kuni hukkumiseni. Seega ühe või teise mikroorganismi osa juustude valmistamisel sõltub eelkõige nende arvust maksimaalse paljunemise perioodil. Kujuneb välja nn. ökoloogiline süsteem, mille juustukvaliteeti tagav stabiilsus on määratletud biotoobi (piima ja sellest saadava juustumassi) ja mikrobiotsünoosi (mikrofloora) vastastikusest sõltuvusest, aga ka mikrobiotsünoosi teatud gruppide vahelistest vastastikustest mõjudest, kus on esindatud nii tehnoloogiliselt kasulikud kui ka kahjulikud mikroorganismid. Küsimused selle süsteemi funktsioneerimise intiiimsetest mehhanismidest ja mikroorganismide

elutegevuse reguleerimisest juustus on aktuaalsed ja kas otseselt või kaudselt seotud toote kvaliteediga. Et Eestis pole tehtud selliseid uuringuid, kus piima käsitlet, lisatavad kultuurid ja juustus toimuvad mikrobioloogilised protsessid oleksid seotud juustude valmistamisega, siis uurimistöö eesmärgiks oli selgitada eraldi kasvatatud *Str. thermophilus*'e, *L. helveticus*'e, *L. casei* ja *Propionibacterium shermanii* monokultuursete juuretiste mõju emmentali juustu valmistamisel toimuvatele mikrobioloogilistele protsessidele, et leida võimalusi toote kvaliteedi tõstmiseks.

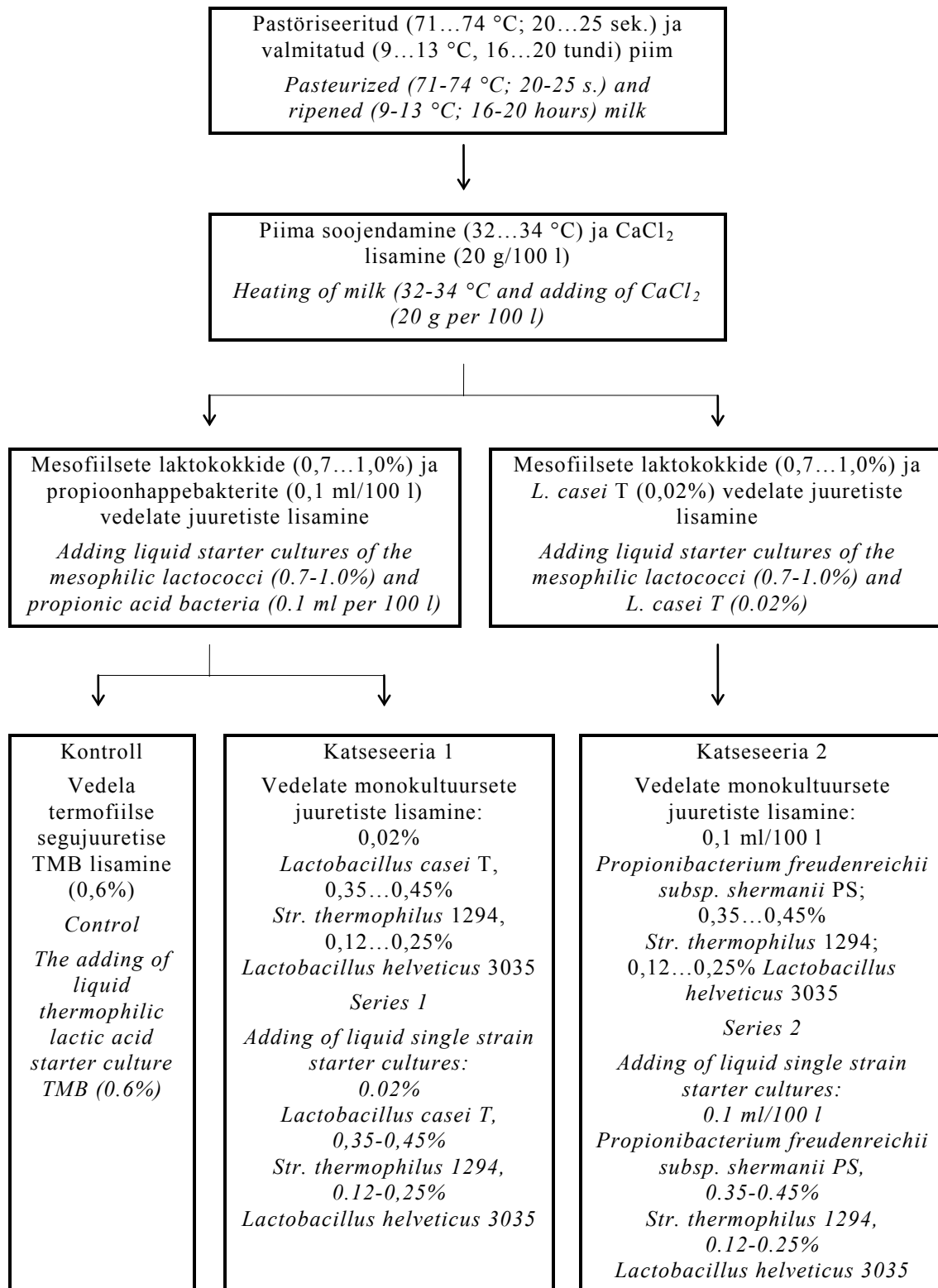
Materjal ja meetodika

Emmentali juustu valmistamise katsed viidi läbi Paide Piimakombinaadis. Vastuvõetud piimast võeti proovid vastavalt IDF Standard 50B:1985 nõuetele ja EV ST 594:90 järgi määrati piima kvaliteet. Juustude valmistamiseks kasutati erinevatest laboratooriumidest tellitud juuretiste kultuure (tabel 1).

Tabel 1. Juustude valmistamisel kasutatud juuretised
Table 1. The starter cultures used for cheesemaking

Juuretiste kultuur <i>Starter culture</i>	Kultuuride kollektsoon <i>Collection of cultures</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i> 1294	VNIIMS-i Altai filiaal <i>Branch office of VNIIMS in Altai</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i> 3035	VNIIMS-i Altai filiaal <i>Branch office of VNIIMS in Altai</i>
Termofiilsete piimhappebakterite segu-juuretis TMB <i>Mixed starter of thermophilic lactic acid bacteria TMB</i>	VNIIMS-i Altai filiaal <i>Branch office of VNIIMS in Altai</i>
<i>Lactobacillus casei</i> T	Eesti Piimaliidu laboratoorium <i>Laboratory of Estonian Dairy Association</i>
Tööstuses kasutatav propioonhappebakterite vedelkultuur <i>Liquid culture of the propionic acid bacteria using in industry</i>	Eesti Piimaliidu laboratoorium <i>Laboratory of Estonian Dairy Association</i>
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> PS	Chr. Hanseni laboratoorium <i>Chr. Hansen's Laboratory</i>

Vastuvõetud piim puhastati piimapuhastiga, normaliseeriti, pastöriseeriti temperatuuril 72...74 °C 20...25 sek. ja jahutati temperatuurini 9...13 °C. Piimale lisati 0,10...0,15% mesofiilsete laktokokkide juuretist ja valmitati temperatuuril 9...13 °C 16...20 tundi. Juustu segupiima koostamine ja juuretiste lisamine toimus joonisel 1 toodud skeemi järgi. Tööstuses lisati juustude valmistamisel piimale 0,60% segujuuretist TMB, mille tüveline koostis ja liikidevaheline suhe oli teadmata. Need teod olid võrdlustegudeks samal ajal valmistatud katsetele, kus esimeses seerias lisati juustupiimale 0,40±0,04% *Streptococcus thermophilus* 1294, 0,17% *Lactobacillus helveticus* 3035, 0,02% *Lactobacillus casei* T-d ja 0,1 ml/100 l tööstuses kasutatavat propioonhappebakterite kultuuri. Teises samal ajal valmistatud katseseerias juustupiimale lisatavate piimhappebakterite kogust ja liigilist koostist võrreldes esimese katseseeriaga ei muudetud, v.a. propioonhappebakterite kultuur, mis asendati samas koguses laboratooriumis testitud *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* PS-ga.



Joonis 1. Juustukatsetel kasutatud juuretiste kultuuride lisamise skeem

Figure 1. The adding scheme of the starter cultures used in the cheesemaking experiments

Juustud valmistati vastavalt tehnoloogilisele juhendile TT 49871-83, kusjuures praegu kehtivas tehnoloogilises juhendis (EE 0105 4110 TT 29-94) on juba arvestatud ka antud uurimistöö tulemusi.

Piima, juuretiste, juustutera, toor- ja 3 kuu vanuste juustude proovid võeti bakteriooloogilisteks uuringuteks IDF Standard 122A:1988 järgi. Bakterite üldarv määrati külvil toiteagarsöötmesse (GOST 92 25-84; EVS 649:1994), kusjuures piimaproovid kasvatati temperatuuril 30 °C 72 tundi, juustutera ja juustu proovid temperatuuril 37 °C 48 tundi (Gilles jt., 1983). Termofiilsed piimhappebakterid määrati kooritud piima lisandiga agarsöötmele pärast 72-tunnist kasvu temperatuuril 44...45 °C (Vedamuthu jt., 1978), termofiilsed piimhapestreptokokid söötmele M17 temperatuuril 45 °C pärast 48-tunnist kasvu ja termofiilsed laktobatsillid söötmele MRS anaeroobsetes tingimustes temperatuuril 37 °C pärast 72-tunnist kasvu (IDF Standard 117A:1988). Mesofiilseid laktokokke määrati söötmele M17 temperatuuril 12 °C pärast 6...7-ööpäevast kasvu (Terzagli jt., 1975; Vedamuthu jt., 1995) ja mesofiilseid laktobatsille söötmele MRS anaerobioosis temperatuuril 30 °C pärast 72-tunnist kasvu (Gudkov jt., 1972). Propioonhappebakterid kasvatati välja laktaatsöötmele anaerobioosis temperatuuril 30 °C pärast 72-tunnist kasvu (Velasco, 1981).

Mesofiilsete aeroobsete bakterite spooride määramisel kasutati Harrigani jt. (1976) ning GOST 25 102-82 poolt esitatud meetodikat. Bakterid kasvatati välja pindkülvil glükoosilisandiga toiteagaril temperatuuril 37 °C 48 tundi. Proovid mesofiilsete aeroobsete laktaate käärivate bakterite spooride määramiseks valmistati ette nagu aeroobsetegi juures. Külvid igast proovist tehti kas kolme katseklaasi või kolbi, kasvatati välja temperatuuril 30 °C 72 tundi ja tulemused hinnati McGready järgi (Kiuru jt., 1975; Collins jt., 1995).

Uurimistulemused

Uurides erineva liigilise koostise ja kindla liikidevahelise suhtega juuretiste mõju emmentali juustude valmistamisel ja valmimisel toimuvatele mikrobioloogilistele ja tehnoloogilistele protsessidele ning kvaliteedile, püüti vähendada nii palju kui võimalik piimast tulevaid erinevusi. Selleks kasutati, toetudes tööstuse kogemustele ja hindamistulemustele, suvisel ja sügissuvisel perioodil laekunud suhteliselt stabiilse kvaliteediga piima, mis sisaldas alla 400 000 somaatilise raku 1 ml-s, ei sisaldanud pidurdusaineid ja oli puhta maitse ning lõhnaga. Esimeses monokultuursete juuretiste kasutamise katseseerias valmistati juustud toorpiimast, mille bakterite üldarv oli 285±69 tuhat cfu/ml, bakterite aeroobsete spooride sisaldus 17,0±3,7 cfu/ml ja kolitiiter ≥0,01 ml. Bakterite anaeroobseid laktaate kääritavaid spoore piimas ei leitud. Teises monokultuursete juuretistega ja valitud propioonhappebakteritega valmistatud juustude katseseerias kasutatud toorpiim ei erinenud oluliselt esimeses katseseerias ega ka kontrollseerias kasutatust.

Enamus piimast kuulus katseperioodil kehtinud piima kokkuostu standardi (EV ST 594:90) järgi kõrgemasse sorti, kuid hiljem kehtima hakanud standardi järgi (EV ST 594:1994) bakterite üldarvu tõttu I sorti.

Vastuvõetud toorpiim puhastati piimapuhastiga, normaliseeriti rasvasisaldus ja pastöriseeriti 72 °C juures 15...20 sek. Pärast jahutamist temperatuurini 9...12 °C suunati piim 50 tonni mahutavasse isotermilisse segajaga varustatud tanki valmima. Pastöriseeritud piima jäi keskmiselt 13,0...13,3 tuhat mikroobirakku 1 ml-s ja pastöriseerimisefektiks kujunes 95,3%, mida loetakse juustupiima pastöriseerimisel heaks (Scott, 1986). Pastöriseerimine bakterite aeroobsete spooride sisaldust ei muutnud ja neid jäi piima endiselt 10...20 cfu/ml.

Märgitakse (Robinson, 1983), et piima pastöriseerimisel hävib enamik mesofiilseid laktobatsille ja propioonhappebaktereid. Esimeses katseseerias kasutatud piima jäi pärast pastöriseerimist mesofiilseid laktobatsille keskmiselt 29,5±6,3 cfu/ml ja propioonhappebaktereid 63,5±11,0 cfu/ml. Esimeses ja teises katseseerias ning võrdlustegudes kasutatud pastöriseeritud piimade bakterioloogiliste näitajate vahel olulist erinevust ei olnud.

Valmitamiseks lisati piimale 0,1% mesofiilset laktokokkide juuretist, mis tõstis juustupiima mikroobide üldarvu esimeses katseseerias 330±63 tuhandele cfu/ml ja teises katseseerias 360±69 tuhande cfu/ml. Juustupiima mikroflooras said domineerivaks laktokokid ja nende sisaldus moodustas ligikaudu 90% mikroobide üldarvust. Kuna juuretises teisi bakterite liike ei olnud, siis nende sisaldus juuretise lisamisel ei muutunud.

Valmitamisel (9...12 °C; 16...20 tundi) tõusis mikroobide üldarv keskmiselt 1,2 korda, kusjuures laktokokkide sisaldus suurenes veelgi rohkem (1,32...1,35 korda; P<0,02). Mõnevõrra tõusid ka mesofiilsete laktobatsillide ja propioonhappebakterite arvud (vastavalt 1,2 ja 1,1 korda), kuid nende tõusud jäid kõikumuse piiridesse ja polnud statistiliselt tõesed.

Piima valmitamine tõstis küll erinevalt eri bakteriliikide sisaldust, kuid katseseeriade vahelisi olulisi erinevusi ei tekkinud ja piima mikroflooras jäid endiselt domineerima laktokokid, nüüd juba kohanenutena ja soodsate tingimuste saabudes valmis aktiivseks elutegevuseks.

Valmitatud ning temperatuurile 33 °C soojendatud piimale lisati tööstuses kasutusel olnud propioonhappebakterite vedelkultuuri ja katlatööde kiiremaks käivitamiseks 0,85% mesofiilset laktokokkide juuretist. Kui mesofiilsete laktokokkide ja propioonhappebakterite juuretiste liigilisi ja koguselisi erinevusi esimese katseseeria ja kontrolltegude vahel ei olnud, siis termofiilset juuretisi kasutati erinevalt. Ühe katla piimasse segati 0,40% *Str. thermophilus* 1294, 0,17% *L. helveticus* 3035 ja 0,02% *L. casei* T-d. Teise katla piimale lisati 0,60% termofiilset laktobakterite segajuuretist TMB, mille tüvelist koostist ei teatud ja selle koostises puudusid mesofiilsed laktobatsillid.

Juuretiste lisamisega tõusis piima mikroobide üldarv ja termofiilsete piimhappebakterite arv miljonitesse ühes milliliitris, kuid vaatamata juuretiste erinevale koostisele, katlapiimade bakterite üldarvus ja termofiilsete piimhappebakterite arvus märkimisväärsed erinevusi ei tekkinud. Kui uuriti katlapiimade termofiilsete piimhappestreptokokkide ja laktobatsillide ning mesofiilsete laktobatsillide sisaldust, siis selgus, et monokultuursete juuretiste kasutamise korral oli piimas termofiilset laktobatsille keskmiselt 850 tuhat cfu/ml ja mesofiilset laktobatsille 97 tuhat cfu/ml rohkem ($P < 0,001$) ning termofiilset piimhappestreptokokke 1,2 mln. cfu/ml vähem ($P < 0,01$) kui juuretise TMB kasutamisel (tabelid 2, 3, 4).

Termofiilsete piimhappebakterite liikidevaheline erinevus piimas tekkis juuretiste kasvatamisest ja kasutamisest. Eraldi kasvatatud ja omavahel sobivate liikide korral on kerge reguleerida koguseliselt liikidevahelist suhet juustupiimas. Segujuuretise kvaliteedi hindamine (organoleptiline, happesus, termofiilsete bakterite üldarv) ei anna usaldusväärset teavet juuretise liikidevahelisest suhtest. Kuna juuretise valmistamisel kasutati 3...4% normaalsest kõrgema kuivainesisaldusega lõssi, siis muutis see märkimisväärselt bakterite liikidevahelise suhte streptokokkide kasuks mitte ainult juuretises TMB, vaid selle kasutamisel ka juustupiimas, ja tekitas kateldevahelise olulise erinevuse.

Juustupiima jäi saastemikrofloorast mesofiilset laktobatsille keskmiselt 35 cfu/ml. Konkureerimaks nendega tekitas *L. casei* T lisamine eraldi kasvatatud termofiilsete juuretiste kasutamisel olulise katlapiimade vahelise mesofiilsete laktobatsillide sisalduse erinevuse ($P < 0,001$, tabel 4).

Termofiilsete piimhappestreptokokkide arv tõusis juustutera töötlusel ja saavutas maksimumi juustude pressimise esimestel tundidel nii eraldi kasvatatud termofiilsete juuretiste kui ka TMB kasutamisel (vastavalt 420 mln. cfu/g ja 580 mln. cfu/g; tabel 2). Edasi hakkas nende sisaldus järk-järgult vähenema. See toimus eriti intensiivselt juustudes eelvalmimisel ja pärast sooja käärimiskeldrit järelvalmimisel (tabel 2).

Juuretistest tekkinud termofiilsete piimhappestreptokokkide sisalduse oluline erinevus katelde piimades säilis juustuteras ja juustudes kuni nende viimiseni sooja käärimiskeldrisse. Juustude järelvalmimisel ja 3 kuu vanustes juustudes, kus nende arv oli langenud vastavalt kümnete tuhandeteni ja mõne tuhandeni, kateldevahelist erinevust enam ei esinenud (tabel 2).

Tabel 2. Termofiilsete piimhappestreptokokkide arvu muutus juustude valmistamisel, kui kasutati juuretistena termofiilseid monokultuure ja termofiilset segujuuretist TMB

Table 2. The change of the count of thermophilic lactic acid streptococci in cheesemaking, when was used the thermophilic single strain starter cultures and the thermophilic mixed starter culture TMB

Juustuvalmistamise tehnoloogiline etapp <i>The technological stage of cheesemaking</i>	Termofiilsete piimhappestreptokokkide arv, cfu/ml/g <i>The count of thermophilic lactic acid streptococci, cfu/ml/g</i>					
	Termofiilsete monokultuursete juuretiste kasutamine <i>Using of the thermophilic single strain starter cultures</i>		Termofiilse segujuuretise TMB kasutamine <i>Using of the thermophilic mixed starter culture TMB</i>		Erinevus <i>Difference</i>	
	Katseseeria 1 / Series I n = 6		Kontroll / Control n = 6			
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	d	P
Piim enne kalgendamist <i>The milk before clotting</i>	$3,2 \times 10^6$	0,4	$4,4 \times 10^6$	0,7	1,2	< 0,01
Juustutera / Curd: enne järelsoojendust <i>before scalding</i>	$32,7 \times 10^6$	5,2	$46,6 \times 10^6$	10,0	13,9	< 0,02
pärast töötlust <i>after working up</i>	$70,0 \times 10^6$	12,0	$98,0 \times 10^6$	19,0	28,0	< 0,02
Juustu pressimine: <i>The pressing of cheese:</i>						
2 tundi / 2 hours	$28,0 \times 10^7$	4,2	$39,0 \times 10^7$	5,5	11,0	< 0,01
5 tundi / 5 hours	$42,0 \times 10^7$	7,6	$58,0 \times 10^7$	9,3	16,0	< 0,01
24 tundi / 24 hours	$29,0 \times 10^7$	4,6	$50,0 \times 10^7$	9,0	21,0	< 0,001
Juust pärast soolamist <i>Cheese after salting</i>	$12,0 \times 10^7$	1,8	$21,0 \times 10^7$	3,2	9,0	< 0,001
Juust enne sooja keldrit <i>Cheese before warm ripening</i>	$6,5 \times 10^5$	1,3	$9,6 \times 10^5$	2,0	3,1	< 0,02
Juust pärast sooja keldrit <i>Cheese after warm ripening</i>	$5,9 \times 10^4$	1,2	$7,8 \times 10^4$	1,7	1,9	< 0,1
3 kuu vanune juust <i>3 months old cheese</i>	$9,8 \times 10^2$	2,1	$12,0 \times 10^2$	2,3	2,2	< 0,2

Nii nagu termofiilsete piimhappestreptokokkide sisaldus tõusis ka termofiilsete laktobatsillide sisaldus juustutera töötlusel ja juustude pressimisel, kuid maksimaalse arvuni tõusis see mitte pärast 5-tunnist pressimist, vaid pressimise lõpul 24 tunni vanustes juustudes (tabel 3). Edasi hakkas nende sisaldus järk-järgult langema ning 3 kuu vanustes juustudes oli neid vaid mõni miljon grammis (tabel 3).

Termofiilsete laktobatsillide sisaldus ületas streptokokkide sisalduse soolamisel ja TMB kasutamisel alles eelvalmimisel. Termofiilsete laktobatsillide oluliselt väiksem arv kontrolltegudes, millele pandi alus TMB lisamisega juustupiimale, säilis nii juustude valmistamisel kui ka valmimisel.

Selgus, et termofiilsete piimhappestreptokokkide aktiivne paljunemine lõppes juustudes pärast 5-tunnist pressimist, kuid laktobatsillide aktiivsus säilus pressimise lõpuni, seega neist sõltus 24 tunni vanuste juustude pH. Laktobatsillide madala arvukuse juures on oht, et pH₂₄ jääb kvaliteeti ohustavalt kõrgeks. Seega termofiilse juuretise liikidevaheline suhe, mis sõltub lisatavast juuretisest, kandub edasi piima ja sealt juustudesse ning on tüvede omaduste kõrval üks olulisi tehnoloogiliste, mikrobioloogiliste ja ensümaatiliste protsesside mõjutamise viise.

Tabel 3. Termofiilsete laktobatsillide arvu muutus juustude valmistamisel termofiilsete monokultuursete juuretiste ja termofiilse segujuuretise TMB kasutamisel
Table 3. The change of the count of thermophilic lactobacillus in cheesemaking, when was used the thermophilic single strain starter cultures and the thermophilic mixed starter culture TMB

Juustuvalmistamise tehnoloogiline etapp <i>The technological stage of cheesemaking</i>	Termofiilsete laktobatsillide arv, cfu/ml/g <i>The count of thermophilic lactobacilli, cfu/ml/g</i>					
	Termofiilsete monokultuursete juuretiste kasutamine <i>Using of the thermophilic single strain starter cultures</i> Katseseeria 1 / <i>Series 1</i> n = 6		Termofiilse segujuuretise TMB kasutamine <i>Using of the thermophilic mixed starter culture TMB</i> Kontroll / <i>Control</i> n = 6		Erinevus <i>Difference</i>	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	d	P
Piim enne kalgendamist <i>The milk before clotting</i>	$1,1 \times 10^6$	0,15	$0,25 \times 10^6$	0,03	0,85	< 0,001
Juustutera / <i>Curd</i> : enne järelsoojendust <i>before scalding</i>	$8,8 \times 10^6$	1,5	$2,0 \times 10^6$	0,4	6,8	< 0,001
pärast töötlust <i>after working up</i>	$11,5 \times 10^6$	2,2	$3,2 \times 10^6$	0,6	8,3	< 0,001
Juustu pressimine: <i>The pressing of cheese:</i>						
2 tundi / <i>2 hours</i>	$46,0 \times 10^6$	7,4	$13,0 \times 10^6$	2,0	33,0	< 0,001
5 tundi / <i>5 hours</i>	$120,0 \times 10^6$	20,5	$34,0 \times 10^6$	5,8	86,0	< 0,001
24 tundi / <i>24 hours</i>	$310,0 \times 10^6$	46,5	$88,0 \times 10^6$	12,3	222,0	< 0,001
Juust pärast soolamist <i>Cheese after salting</i>	$260,0 \times 10^6$	36,0	$76,0 \times 10^6$	10,6	184,0	< 0,001
Juust enne sooja keldrit <i>Cheese before warm ripening</i>	$110,0 \times 10^6$	20,0	$36,0 \times 10^6$	5,4	74,0	< 0,001
Juust pärast sooja keldrit <i>Cheese after warm ripening</i>	$18,0 \times 10^6$	3,4	$5,6 \times 10^6$	1,2	12,4	< 0,001
3 kuu vanune juust <i>3 months old cheese</i>	$7,9 \times 10^6$	1,6	$3,6 \times 10^6$	0,8	4,3	< 0,001

L. casei T-ga, mis lisati koos termofiilsete monokultuursete piimhappebakterite juuretistega, programmeeriti katsesse mesofiilsete laktobatsillide erinevus. *L. casei* T lisamisel ületas mesofiilsete laktobatsillide arv piimas saastemikrofloorast jäänu ligikaudu 2800 korda. Mesofiilsete laktobatsillide olulist paljunemist juustuteras ja juustudes pressimisel ei toimunud, sest keskkonna temperatuur oli ebasoodne. Nende paljunemine aktiveerus *L. casei* T kasutamisel eelvalmivates juustudes, pidurdus soojas kääriskeldris ja jätkus mõnevõrra veel järelvalmimisel. 3 kuu vanustes juustudes tõusis nende sisaldus 18 mln. cfu/g (tabel 4, joonis 2).

L. casei T lisandita sisaldas juustupiim ainult saastemikrofloorast pärinevaid mesofiilseid laktobatsille (tabel 4). Nende arv juustudes suurenes märkimisväärselt soolamisel. Selle põhjuseks oli juustudes olevate liikide paljunemine, kuid väikese arvu juures on tõenäoline, et oma oluline osa arvukuse suurenemisel, millele juhitakse tähelepanu ka Hupi jt. (1982) ning Stadhoudersi jt. (1988) töödes, oli soolvee saastemikrofloorast juustu tunginud liikidel. Juustude valmides, nii nagu *L. casei* T lisamiselgi, mesofiilsete laktobatsillide kasv jätkus ja saavutas maksimumi (keskmiselt 25 mln. cfu/g; tabel 4, joonis 2). Ettevaatlikuks teeb see, et saastemikrofloora väiksearvulisest mesofiilsete laktobatsillide populatsioonist kasvas välja 3 kuu vanustes juustudes propioonhappebakterite kõrval üks suuremaid

populatsioone. See jätab aga paratamatult oma jälje juustude kvaliteedile. On leitud (Hup jt., 1982; Stadhouders jt., 1988), et piima ja soolvee saastemikrofloora mesofiilsete laktobatsillide seas võib leiduda aktiivseid proteolüüte ja propioonhappebakterite kasvu inhibeerivaid liike. Seega saastemikrofloora mesofiilsete laktobatsillide juures ei saa me kunagi kindlad olla, et ei kasva välja valke kibedate peptiidideni hüdroolüüsiv või propioonhappebakterite kasvu inhibeeriv populatsioon, mis alandab juustude maitseomadusi ja/või pidurdab augustuse kujunemist ning tekitab lõhet.

Katsetel selgus, et üheks abinõuks saastemikrofloorast pärinevate mesofiilsete laktobatsillide kasvu stabiliseerimisel oli *L. casei* T lisamine, millega saavutati piimas kohe suur arvuline ülekaal (tabel 4, joonis 2) ja hõivati hilisemal paljunemisel juustudes "metsikute" laktobatsillide energeetiline materjal. Seega tuntud omadustega mesofiilsete laktobatsillide juuretise lisamisega võime stabiliseerida "metsikute", saastemikrofloorast pärinevate mesofiilsete laktobatsillide paljunemist ja mõjutada selle kaudu soovitud suunas juustude maitseomaduste ja konsistentsi ning koos propioonhappebakteritega ka augustuse kujunemist.

Tabel 4. Mesofiilsete laktobatsillide arvu muutus juustude valmistamisel termofiilsete monokultuursete juuretiste ja termofiilse segujuuretise TMB kasutamisel

Table 4. The change of the count of mesophilic lactobacillus in cheesemaking when was used the thermophilic single strain starter cultures and the thermophilic mixed culture TMB

Juustuvalmistamise tehnoloogiline etapp <i>The technological stage of cheesemaking</i>	Mesofiilsete laktobatsillide arv, cfu/ml/g <i>The count of mesophilic lactobacilli, cfu/ml/g</i>					
	Termofiilsete monokultuursete juuretiste kasutamine <i>Using of the thermophilic single strain starter cultures</i>		Termofiilse segujuuretise TMB kasutamine <i>Using of the thermophilic mixed starter culture TMB</i>		Erinevus <i>Difference</i>	
	Katseseeria 1 / Series 1 n = 6		Kontroll / Control n = 6			
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	d	P
Piim enne kalgendamist <i>The milk before clotting</i>	$9,7 \times 10^4$	1,3	35,0	6,8	$9,7 \times 10^4$	< 0,001
Juustutera / Curd: enne järeelsoojendust <i>before scalding</i>	$6,8 \times 10^5$	1,5	$2,7 \times 10^2$	0,6	$6,8 \times 10^5$	< 0,001
pärast töötlust <i>after working up</i>	$5,5 \times 10^5$	0,9	$1,6 \times 10^2$	0,3	$5,5 \times 10^5$	< 0,001
Juustu pressimine: <i>The pressing of cheese:</i>						
2 tundi / 2 hours	$4,8 \times 10^5$	0,9	$1,5 \times 10^2$	0,3	$4,8 \times 10^5$	< 0,001
5 tundi / 5 hours	$5,3 \times 10^5$	0,8	$1,7 \times 10^2$	0,3	$5,3 \times 10^5$	< 0,001
24 tundi / 24 hours	$9,1 \times 10^5$	1,3	$3,1 \times 10^2$	0,5	$9,1 \times 10^5$	< 0,001
Juust pärast soolamist <i>Cheese after salting</i>	$8,7 \times 10^5$	1,5	$1,9 \times 10^3$	0,3	$8,7 \times 10^5$	< 0,001
Juust enne sooja keldrit <i>Cheese before warm ripening</i>	$2,8 \times 10^6$	0,5	$1,7 \times 10^5$	0,3	$2,6 \times 10^5$	< 0,001
Juust pärast sooja keldrit <i>Cheese after warm ripening</i>	$2,6 \times 10^6$	0,5	$2,2 \times 10^7$	0,3	0,4	< 0,1
3 kuu vanune juust <i>3 months old cheese</i>	$1,8 \times 10^7$	0,3	$2,5 \times 10^7$	0,4	0,7	< 0,01

Joonis 2. Mesofiilsete laktobatsillide arvu muutus juustude valmistamisel

Figure 2. *The change of the count of mesophilic lactobacilli in cheesemaking*

S1 (katseseeria 1) – termofiilsete monokultuursete juuretiste ja *L. casei* T kasutamisel

S1 (series 1) – using of the thermophilic single strain starter cultures and Lactobacillus casei T;

S2 (katseseeria 2) – termofiilse segujuuretise TMB kasutamisel

S2 (series 2) – using of the thermophilic mixed culture TMB.

Etapid: 1 – piim enne kalgendamist, 2 – juustutera enne järelsoojendust, 3 – juustutera pärast töötlust, 4 – juust 2 tundi pressimisel, 5 – juust 5 tundi pressimisel, 6 – 24 tundi vana juust, 7 – juust pärast soolamist, 8 – juust enne sooja kääriskeldrit, 9 – juust pärast sooja kääriskeldrit, 10 – 3 kuu vanune juust

Stages: 1 – the milk before clotting, 2 – the curd before scalding, 3 – the curd after working up, 4 – the cheese after 2 hours pressing, 5 – the cheese after 5 hours pressing, 6 – 24 hours old cheese, 7 – the cheese after salting, 8 – cheese before warm ripening, 9 – cheese after warm ripening, 10 – 3 months old cheese

Katlapiimade mesofiilsete laktokokkide sisalduse vahel olulist erinevust ei olnud, sest lisatud juuretise kogused olid paralleeltegude juures ühesuurused. Monokultuursete termofiilsete juuretiste kasutamisel oli neid juustupiimas keskmiselt 4,7 mln. cfu/ml ja TMB kasutamisel 5,2 mln. cfu/ml. Nende arv tõusis maksimumini juustuteras enne järelsoojendust ja langes siis kõrge järelsoojendustemperatuuri suhteliselt pikaajalise toime tõttu 75...82 miljonilt cfu/g kiiresti 330...350 tuhande cfu/g. Edasi nende arvu langus aeglustus, kuid jätkus veel ka 3 kuu vanustes juustudes. Seega mesofiilsetel laktokokkidel oli aktiivne osa juustupiima happesuse tõususe kalgendi moodustumisel ja kalgendi ning juustutera struktuuri kujundamisel kui ka vadaku eraldumisel.

Piima saastatus aeroobsete bakterite spooridega oli suhteliselt väike ja nende paljune mine juustude valmistamisel aeglane. Martini (1974) andmetel võib piim sisaldada < 50 kuni 5900 spoori/ml (keskmiselt 400...760 spoori/ml). Katsetel saavutas spooride arv juustudes maksimumi pärast soolamist (1,8...2,2 tuhat cfu/g) ja hakkas siis pidevalt langema ning jäi 3 kuu vanustes juustudes tasemele 89...94 cfu/g. Erinevate juuretiste kasutamine nende sisalduses katsetevahelisi olulisi erinevusi ei tekitanud ja madala arvukuse tõttu ei põhjustanud nad olulist ohtu ka juustude kvaliteedile.

Vaatamata sellele, et piima analüüsid anaeroobsete laktaate käärivate bakterite spoore ei sisaldanud, leiti neid siiski juustudes, kuid mitte sel määral, et nad oleksid põhjustanud muutusi 3 kuu vanuste juustude kvaliteedis. On leitud (IDF Bulletin nr. 216), et nad mõju tavad juustude kvaliteeti siis, kui nende arv ületab piimas 20 spoori/100 ml ja juustudes tõuseb see tuhandetesse või kümnetesse tuhandetesse grammis.

Propioonhappebakterite vedelkultuuri lisamine tõstis nende arvu juustupiimas enne kalgendamist 470...520 cfu/ml (tabel 5). Et paralleeltegudele lisatav kogus oli võrdne, siis katse- ja kontrolltegude vahelisi olulisi erinevusi piimas ei tekkinud (tabel 5). Propioonhappebakterite arvu olulist kasvu piima kalgendamisel, juustutera töötlusel juustude pressimisel ja soolamisel ei toimunud, sest piimas on nende kasv aeglane (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1974), juustuteras ja juustudes pressimisel ebasobiv kõrge temperatuur (Boyaval jt., 1987; Collins jt., 1995) ning soolamisel märkimisväärne soola inhibeeriv mõju (Ostroumov jt., 1974). Propioonhappebakterid hakkasid intensiivselt paljunema juustudes eelvalmimisel, mis jätkus käärimiskeldris ning vähemal määral veel ka järelvalmimisel nii, et maksimaalse arvuni jõuti 3 kuu vanustes juustudes. Selgus, et termofiilsete monokultuursete juuretiste ja *L. casei* T kasutamisel oli propioonhappebakterite paljunemine alates soojast käärimiskeldrist intensiivsem, mis tekitas olulise arvulise erinevuse (18 mln. cfu/g, $P < 0,001$; tabel 5) järelvalmimisel ja 3 kuu vanustes juustudes võrreldes TMB-ga valmistatud juustudega.

peetakse vajalikuks propioonhappebakterite intensiivset arengut (Perez jt., 1988), sest sellest sõltub nende juustudele tüüpilise maitse ja lõhna, kuid veelgi enam augustuse kujunemine. Kuna propioonhappebakterite arv püsis kõrge juustudes järelvalmimisel ja 3 kuu vanustes juustudes saavutas maksimumi, siis järeldub, et nad jäid aktiivseteks ka madalatel temperatuuridel, s.o. 6...10 °C juures. Hettinga jt. (1972) järgi on oht, et madalatel temperatuuridel juustude vähenenud elastsuse juures võib propioonhappebakterite intensiivne CO₂ produktsioon põhjustada juustudes lõhede teket ja kahjustada seega oluliselt juustude tekstuuri.

Teises katseseerias kasutati kontrolltegude valmistamisel, nagu esimeseski katseseerias, segujuuretist TMB ja tööstuses kasutatavat propioonhappebakterite vedelkultuuri. Teise katseseeria katsetel kasutati samuti neid termofiilsete piimhappebakterite monokultuurseid juuretiste liike ja mesofiilset *L. casei* T-d, mis esimeseski katseseerias, kuid propioonhappebakterite kultuur asendati sama suure koguse laboratooriumis testitud *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* PS vedelkultuuriga. Katsetel, kus 4 tegu 6-st valmistati koos esimese katseseeria tegudega, s.o. ka ühest ja samast valmitatud piimast, oli eesmärk säilitada võimaluse piires samu tingimusi, mis esimeseski katseseerias, et vähendada kõrvaltegurite mõju tulemustele.

Kuna mesofiilsete ja termofiilsete piimhappebakterite juuretiste koguses ning liigilises koostises erinevusi ei tehtud, siis ka juustupiima mikroobide üldarvus ja termofiilsete piimhappebakterite arvus erinevusi ei tekkinud.

Termofiilsete piimhappestreptokokkide ja laktobatsillide ning mesofiilsete laktokokkide paljunemise dünaamika sarnanes esimeses katseseerias toimunud muutustega. Termofiilsete piimhappestreptokokkide ja laktobatsillide ning mesofiilsete laktobatsillide paljunemisel tekkisid samad juuretistest põhjustatud erinevused, mis esimeseski katseseerias termofiilsete monokultuursete juuretiste ja *L. casei* T ning termofiilse segujuuretise TMB kasutamisel, sest segujuuretise valmistamise tehnoloogiat ei muudetud.

□ veitsi juustu tüü

Tabel 5. Propioonhappebakterite arvu muutus juustude valmistamisel termofiilsete monokultuursete juuretiste ja termofiilse segujuuretise TMB kasutamisel

Table 5. The change of the count of propionic acid bacteria in cheesemaking when was used the thermophilic single strain starter cultures and the thermophilic mixed starter culture TMB

Juustuvalmistamise tehnoloogiline etapp <i>The technological stage of cheesemaking</i>	Propioonhappebakterite arv, cfu/ml/g <i>The count of propionic acid bacteria, cfu/ml/g</i>					
	Termofiilsete monokultuursete juuretiste kasutamine <i>Using of the thermophilic single strain starter cultures</i> Katseseeria 1 / <i>Series 1</i> n = 6		Termofiilse segujuuretise TMB kasutamine <i>Using of the thermophilic mixed starter culture TMB</i> Kontroll / <i>Control</i> n = 6		Erinevus <i>Difference</i>	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	d	P
Piim enne kalgendamist <i>The milk before clotting</i>	$5,2 \times 10^2$	0,9	$4,7 \times 10^2$	0,8	0,5	< 0,3
Juustutera / <i>Curd:</i>						
enne järeelsoojendust <i>before scalding</i>	$3,8 \times 10^3$	0,8	$3,4 \times 10^4$	0,6	0,4	< 0,3
pärast töötlust <i>after working up</i>	$4,1 \times 10^3$	0,7	$3,7 \times 10^3$	0,6	0,4	< 0,3
Juustu pressimine: <i>The pressing of cheese:</i>						
2 tundi / <i>2 hours</i>	$2,7 \times 10^3$	0,4	$2,5 \times 10^3$	0,4	0,2	< 0,3
5 tundi / <i>5 hours</i>	$1,9 \times 10^3$	0,4	$1,8 \times 10^3$	0,2	0,1	< 0,3
24 tundi / <i>24 hours</i>	$1,6 \times 10^3$	0,2	$1,5 \times 10^3$	0,2	0,1	< 0,3
Juust pärast soolamist <i>Cheese after salting</i>	$1,5 \times 10^3$	0,3	$1,3 \times 10^3$	0,2	0,2	< 0,2
Juust enne sooja keldrit <i>Cheese before warm ripening</i>	$3,1 \times 10^6$	0,5	$2,8 \times 10^6$	0,4	0,3	< 0,3
Juust pärast sooja keldrit <i>Cheese after warm ripening</i>	$3,9 \times 10^7$	0,7	$2,1 \times 10^7$	0,4	1,8	< 0,001
3 kuu vanune juust <i>3 months old cheese</i>	$4,2 \times 10^7$	0,6	$2,4 \times 10^7$	0,4	1,8	< 0,001

Saastemikrofloorast oli aeroobsete bakterite ja anaeroobsete laktaate käärivate bakterite spooride sisaldus piimas samas suurusjärgus nagu esimeseski katseseerias. Juustude valmistamisel olulisi katsetevahelisi kui ka katseseeriade vahelisi erinevusi ei tekkinud ja kuna nende arvukus oli suhteliselt väike piimas ning juustudes aktiivset paljunemist ka ei tekkinud, siis olulist mõju nad juustude organoleptilistele omadustele ei avaldanud.

Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii PS ja tööstuses kasutatava propioonhappebakterite kultuuri kasutamine juustupiimas ning 24 tunni vanustes juustudes olulisi erinevusi ei tekitanud. Erinevus tekkis juustudes eelvalmimisel propioonhappebakterite intensiivsel paljunemisel, kus kultuuri PS kasv oli tunduvalt aeglasem kui tööstuses kasutataval kultuuril. Soojas kääriskeldris aktiveerus kultuuri PS paljunemine ja nende arv tõusis 54 mln. cfu/g, s.o. ligikaudu 2 suurusjärku (tabel 6). Tööstuses kasutatava kultuuri paljunemine oli tagasihoidlikum ja nende arv tõusis juustudes 24 mln. cfu/g ning jäi 30 mln. cfu võrra grammis väiksemaks (tabel 6). Järeelvalmimisel kultuuri PS kasv pidurdus ja bakterite arv langes 3 kuu vanustes juustudes 29 mln. cfu/g ning võrdsustus praktiliselt propioonhappebakterite arvuga, mis oli juustudes tööstuses kasutatava kultuuri kasutamisel (tabel 6). Selgus, et propioonhappebakterite kultuur PS oli tundlikum madalatele temperatuuridele ja seetõttu juustudes lõhede tekke seisukohalt kasutada ohutum võrreldes tööstuses kasutatava kultuuriga.

Tabel 6. Propioonhappebakterite arvu muutus juustude valmistamisel termofiilsete monokultuursete juuretiste ja testitud propioonhappebakterite ning termofiilse segujuuretise TMB kasutamisel

Table 6. The change of the count of propionic acid bacteria in cheesemaking when was used the thermophilic single strain starter cultures, selected propionic acid bacteria culture and the thermophilic mixed starter culture TMB

Juustuvalmistamise tehnoloogiline etapp <i>The technological stage of cheesemaking</i>	Propioonhappebakterite arv, cfu/ml/g <i>The count of propionic acid bacteria, cfu/ml/g</i>					
	Termofiilsete monokultuursete juuretiste ja valitud propioonhappebakterite kasutamine <i>Using of the thermophilic single strain starter cultures and selected propionic acid bacteria culture</i>		Termofiilse segujuuretise TMB kasutamine <i>Using of the thermophilic mixed starter culture TMB</i>		Erinevus <i>Difference</i>	
	Katseseeria 2 / Series 2 n = 6		Kontroll / Control n = 6			
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	d	P
Piim enne kalgendamist <i>The milk before clotting</i>	$5,1 \times 10^2$	0,9	$5,6 \times 10^2$	1,0	0,5	< 0,3
24 tunni vanune juust <i>24 hours old cheese</i>	$1,4 \times 10^3$	0,3	$1,3 \times 10^3$	0,3	0,1	< 0,3
Juust enne sooja keldrit <i>Cheese before warm ripening</i>	$5,9 \times 10^5$	1,0	$2,7 \times 10^6$	0,5	$21,1 \times 10^5$	< 0,001
Juust pärast sooja keldrit <i>Cheese after warm ripening</i>	$5,4 \times 10^7$	0,8	$2,4 \times 10^7$	0,4	3,0	< 0,001
3 kuu vanune juust <i>3 months old cheese</i>	$2,9 \times 10^7$	0,4	$2,7 \times 10^7$	0,4	0,2	< 0,3

Seega propioonhappebakterite kultuuride valikuga ja erinevate kultuuride kasutamisega on võimalik oluliselt muuta ja märkimisväärtetes piirides reguleerida propioonhappebakterite paljunemist juustudes valmimise erinevatel etappidel, kusjuures peetakse oluliseks (Robinson, 1983; Scott, 1986), et nad oleksid aktiivsed ja paljuneksid intensiivselt just soojas kääriskeldris, sest siis on tingimused kõige soodsamad augustuse ja heade organoleptiliste omaduste kujunemiseks.

Katsetest võib järeldada, et valitud ja eraldi kasvatatud termofiilsete juuretiste kasutamine emmentali juustude valmistamisel võimaldab kergemini kontrollida lisatavate monokultuuride aktiivsust ja kvaliteeti ning viia neid piima vajalikus vahekorras.

Mesofiilsete laktobatsillide juuretiste kasutamine (katsetes *L. casei* T) osutus üheks "metsikute" laktobatsillide paljunemist stabiliseerivaks teguriks juustudes ka siis, kui "metsikuid" oli piimas kasvõi mõnikümmend rakku ml-s. Juuretistest ülekaalukate mesofiilsete laktobatsillide puudumisel areneb "metsikutest" välja juustudes meile mitte prognoositava, kuid enamasti juustude kvaliteeti alandavate omadustega üks domineerivamaid populatsioone.

Termofiilsete piimhappebakterite segujuuretise valmistamine on küll väiksema töömahuga, kuid kvaliteet raskemini kontrollitav – eriti üksikute liikide aktiivsus ja liikidevaheline suhe juuretises. Suhte märkimisväärne muutus mõjutab oluliselt mikrobioloogilisi protsesse juustude valmistamisel ja nende kaudu ka juustude kvaliteeti.

Oluline on, et propioonhappebakterite kasutatav kultuur oleks testitud kooskasvule mesofiilsete ja termofiilsete piimhappebakterite juuretistega ning kasvule madalatel temperatuuridel.

Kokkuvõte

Uuriti termofiilsete piimhappebakterite ja propioonhappebakterite monokultuursete juuretiste kasutamise mõju emmentali juustu mikrobioloogilistele protsessidele.

Pastöriseeritud piima valmitamisel mesofiilsete laktokokkide juuretisega (0,10...0,15%) temperatuuril 9...12 °C 16...20 tundi suurenes laktokokkide arv 1,32...1,35 korda ja piimas jäid domineerima laktokokid. Pärast termofiilsete juuretiste ja *L. casei* lisamist oli monokultuuride kasutamisel piimas termofiilseid ja mesofiilseid laktobatsille rohkem ning termofiilseid piimhappestreptokokke vähem kui termofiilse segujuuretise TMB kasutamisel. Erinevus tekkis lisatavate juuretiste tüvedevahelisest suhtest, mis TMB tarbejuuretise valmistamisel ei olnud kontrollitav. See muutunud suhe kandus juuretise lisamisel piima ja sealt edasi juustudesse. Erinevused monokultuuridega valmistatud juustude ja TMB-ga valmistatud juustude vahel püsisid termofiilsete streptokokkide puhul 30 päeva ja laktobatsillide puhul 3 kuud. See mõjutas oluliselt 24 tunni vanuste juustude kvaliteeti.

Lactobacillus casei T lisamisega suurenes mesofiilsete laktobatsillide arv piimas, mis stabiliseeris saastemikrofloorast pärinevate laktobatsillide paljunemise juustus.

Piima saastatus aeroobsete bakterite spooridega oli väike ja nende paljunemine juustudes aeglane ning erinevate juuretiste kasutamine nende arvukuses olulisi erinevusi ei tekitanud.

Monokultuursete juuretiste kasutamisel oli propioonhappebakterite paljunemine soojas kääriskeldris intensiivsem, mis tõstis nende arvu oluliselt suuremaks ka järelvalmivates ja 3 kuu vanustes juustudes võrreldes segajuuretistega valmistatud juustudega.

Leiti, et propioonhappebakterite kasutatav kultuur peaks olema testitud kooskasvule mesofiilsete ja termofiilsete piimhappebakterite juuretistega ning kasvule madalatel temperatuuridel. Valitud kultuuride kasutamisega oli võimalik soovitud suunas muuta ja märkimisväärtsetes piirides reguleerida nende paljunemist juustudes.

Kirjandus

- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 1974. 8th edn. : 1346-1353.
- Boyaval P., Corre C. 1987. Continuous fermentation of sweet whey permeate for propionic acid production in a CSTR with of recycle. *Biotechnology Letters*. 11(9) : 801-806.
- Collins C. H., Lyne P. M., Grange J. M. 1995. *Microbiological Methods*. 7. ed. Butterworth-Heinemann Ltd. Great Britan. 493.
- EE 0105 4110 TT 29-94, 1994. Tallinn. 14. □veitsi juust. Tehnil
- EV ST 594-90. 1990. Piim. Kokkuostunõuded. EV Majandusministeerium. 1-6.
- EVS 649:1994. Piim ja piimatooted. Bakterite arvu määramine. Eesti Standardiamet. 9.
- Gilles J., Turner K. W., Martley F. G. 1983. Swiss-type cheese. I Manufacturing and sampling procedures. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*. 18: 109-115.
- GOST 25 102-82; ГОСТ 25 102-82. Методы определения содержания спор мезофильных анаэробных бактерий. – Издат. стандартов. М. 7.
- GOST 9225-84; ГОСТ 3626-73. Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа. – Издат. стандартов. М. 25.
- Gudkov jt.: Гудков А.В., Перфильев Г.Д. 1987. К теории управления микробиологическими процессами в сыроделии. – Сб. научн. трудов. "Технологические особенности пр-ва и повыш. качества сыров". 36 : 4-9.
- Gudkov jt.: Гудков А.В., Хандак Р.Н. 1972. Применение среды Рагозы для количественного определения молочнокислых палочек. – Молочная промышленность. 8 : 9-11.
- Harrigan W. F., McCance M. E. 1976. *Laboratory methods in food and dairy microbiology*. Academic Press. London. (by Valion laboratorion menetelmä II) 1984. Helsinki. Menetelmä 10.
- Hettinga D. H. 1972. The role of propionibacteria in the split defect of Swiss Cheese. Dissertation. Iowa. 168.
- Hup A., Stadhouders J., de Vries E., van den Berg G. 1982. Lactobacilli in "weak" brine and the quality of cheese. *Nordeuropeisk mejeri-tidsskrift* 4 : 145-154.
- IDF Standard 117 : 1983 and IDF Standard 117A : 1988. Yogurt. Enumeration of characteristic microorganisms. Colony count technique at 37°C.

- IDF Standard 122 A : 1988. Milk and milk products. Preparation of samples and dilutions for microbiological examinations. 12.
- IDF Standard 50 B : 1985. Milk and milk products. Methods of sampling. 9.
- Kiuru V., Moisio T., Kreula M. 1975. Säilörehujen käymistäpahtumista sekä vaikutuksesta lehmän sonnan vöihappobasillipitaisuuteen. Karjantuotte. 3 : 4-8.
- Martin J. H. 1974. Significance of bacterial spores in milk. J. Milk Food Technol. 37(2) : 94-98.
- McKinnon C. H., Pettipher G.L. 1983. A survey of sources of heat-resistant bacteria in milk with particular reference to psychrotrophic spore-forming bacteria. Journal of Dairy Research. 50 : 163-170.
- Ostroumov jt.: Остроумов Т.А., Андреев А.Н. 1974. Влияние концентрации поваренной соли на активность пропионовокислого брожения в советском сыре. – Из книги: "Биологические методы совершенствования технологии сыра". Труды ВНИИМС. Пищевая промышленность. М. 53-56.
- Perez C. A., Holgado R. A., Oliver G. 1988. Effect of pH and temperature on the proteolytic activity of *Propionibacteria*. Microbiologic. Aliments. Nutrition. 6 : 91-94.
- Reiter B. 1985. The biological significance and exploitation of the non-immunoglobulin protective proteins in milk: lysozyme, lactoferrin, lactoperoxidase, xanthine-oxidase. IDF Bull. 191 : 2-35.
- Robinson R. K. 1983. Dairy Microbiology. V.2. The microbiology of milk products. 333.
- Scott R. 1986. Cheesemaking Practice. Elsevier applied science publishers. London, New York. 188.
- Stadhouders J., Leenders G. J. M., Maessen-Damsma G., de Vries E., Eilert J. G. 1988. Reducing the contamination of weak brine by salt-resistant lactobacilli through better hygienic in the brining room. Dairy Sci. Abstr. 5 : 287.
- TU 49 871-83: ТУ 49 871-83. Сыр эментальский. Технические условия. Издат. стандартов. М. 23.
- Vedamuthu E. R., Hankin L., Ordal Z. J., Vanderzant C. 1978. Thermotolerant, thermophilic and psychrotrophic bacteria. Standard methods for the examination of dairy products APHA. Washington D.C. 107-113.
- Velasco J. O. 1981. A culture medium for propionibacteria. Dairy Sci. Abstr. 43(4) : 288-289.